Verteilung und Utilisation des Tris–8–Hydroxychinolin–Fe(III)–Komplexes bei normalen und anämischen Ratten

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

vorgelegt von

Armin Texter

Saarbrücken

1971

Druck:
Universitätsbibliothek Saarbrücken

Aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie
der Universität des Saarlandes 665 Homburg/Saar
(Direktor: Professor Dr. med. W. RUMMEL)

Verteilung und Utilisation des Tris-8-Hydroxychinolin-Fe(III)-Komplexes bei normalen und anämischen Ratten

I N A U G U R A L D I S S E R T A T I O N
zur Erlangung der Doktorwürde der
HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

vorgelegt von

Armin Texter

(1970)

Dekan: Professor Dr. med. H. KULENKAMPFF
Referent: Professor Dr. med. W. FORTH

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Die mündliche Promotionsprüfung wurde am 4.11.1971 abgelegt

Meiner Mutter

Inhaltsverzeichnis Seite

I. ZUSAMMENFASSUNG 1

II. EINLEITUNG 3

III. METHODEN 6

1.) Versuchstiere und deren Fütterung 6

2.) Eisenlösungen 7

3.) Versuchsanordnung 9

4.) Messung der Radioaktivität 9

5.) Berechnung und Korrektur der Messwerte 11

IV. ERGEBNISSE 13

1.) Verteilung von ^{59}Fe nach intravenöser Injektion 13

2.) Verteilung von ^{59}Fe nach oraler Applikation 17

V. DISKUSSION 23

VI. TABELLENANHANG

VII. LITERATURVERZEICHNIS

VIII. LEBENSLAUF

I. ZUSAMMENFASSUNG

1.) Mit radioaktiv markiertem ^{59}Eisen wurde die Verteilung und die Utilisation, d.h. die Aufnahme des Radioeisens in die Erythrozyten, bei normalen und eisenarmen Ratten bestimmt.

2.) 1 Stunde nach der intravenösen Injektion bei normalen Ratten befinden sich verglichen mit Kontrollen, denen freies Eisen (^{59}Fe-($FeCl_3$), 0,18 µMol) injiziert wurde, von dem als Tris-8-Hydroxychinolin-Fe(III)-Komplex applizierten Eisen 10 mal mehr in der Lunge, 4 mal mehr in den Nieren, 2 mal mehr im Magen-Darmtrakt und 1,7 mal mehr in der Leber. Im Blut und im Femurknochen, dessen Radioaktivität ein Maß für die Eisen-Aufnahme in das blutbildende Knochenmark ist, befinden sich zu diesem Zeitpunkt bei beiden Gruppen etwa gleichviel Radioaktivität.

Der höhere Gehalt an Radioaktivität in den Organen der 8-Hydroxychinolin-Fe(III)-Gruppe im Vergleich mit den Kontrollen ist auch noch 6 Tage nach der Applikation nachweisbar.

Die Prüfung der Retention des i.v. applizierten Eisens über 12 Tage ergab keinen Unterschied im Verlust der ^{59}Fe-Aktivität: beide Gruppen verloren während des geprüften Zeitraums durchschnittlich 5 % der injizierten Radioaktivität.

3.) Nach der <u>oralen</u> Applikation von ^{59}Fe-($FeCl_3$) (Eisen-Dosis: 0,36 µMol) zeigte sich bei normalen Tieren im Prinzip das gleiche Verteilungsmuster des Radioeisens in den Organen wie nach der i.v. Injektion. Der Vergleich der Eisenverteilung bei eisenarmen Tieren mit demjenigen bei normalen zeigte für den 8-Hydroxychinolin-Fe(III)-Komplex in den ersten 24 Stunden - genau wie nach der i.v.-Injektion von Eisen - eine höhere Radioaktivität in der Leber und Lunge. Nach 5 Tagen ist jedoch in der Gruppe der eisenarmen Tieren der erhöhte ^{59}Fe-Gehalt dieser Organe zugunsten der Utilisation des komplexgebundenen Eisens, d.h. zugunsten der Aufnahme des Eisens in die Erythrozyten verschwunden.

4.) Die Möglichkeiten, die für die Ausnutzung des 8-Hydroxychinolin-Fe(III)-Komplexes im Organismus bestehen, werden diskutiert. Im Eisenmangel kann der Komplex bereits in der Mucosa des Darmes oder später nach der Inkorporation in den Organen, in denen der Komplex deponiert wurde, bzw. in den Reticulozyten sein Eisen freisetzen. Dabei können reduktive Vorgänge und die Bildung sogenannter Heterokomplexe mit Liganden, die im Organismus vorhanden sind und die mit Eisen Komplexverbindungen eingehen können, zur Labilisierung des 8-Hydroxychinolin-Fe(III)-Komplexes beitragen, deren Folge ein höherer Grad der Freisetzung von Eisen aus dem Komplex ist.

II. EINLEITUNG

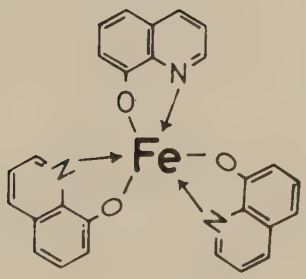
Die Frage, in welcher Form Eisen am besten zu therapeutischen Zwecken dem Organismus zugeführt werden soll, wird bis heute immer wieder von Neuem aufgeworfen. Bei der therapeutischen Anwendung soll das Eisen einerseits gut resorbierabr und auf der anderen Seite soll es gut bekömmlich sein. Bis vor etwa 50 Jahren benutzte man in Ostpreussen und Russland entsprechend einer alten Rezeptur die Molke saurer Milch, in die zuvor Hufnägel eingelegt worden waren; in einem anderen alten Rezept wurden mit Hufnägel gespickte Äpfel zur Therapie des Eisenmangels empfohlen (Zit. nach 1). Das therapeutische Prinzip beider Rezepte ist einfach: in beiden Fällen wird im sauren Milieu Eisen in ionisierter Form gelöst, das mit den im Überschuß vorhandenen Liganden, - Aminosäuren und Milchsäure einerseits und Fruchtsäuren, wie Zitronensäure und Äpfelsäure, aber auch Fructose andererseits - Komplexverbindungen, sogenannte Chelate, bildet. Im Falle der mit Nägeln gespickten Äpfel spielt sicherlich auch der Gehalt an Ascorbinsäure eine Rolle, sei es als Chelatbildner oder sei es als Reduktionsmittel, das Eisen in der zweiwertigen Oxydationsstufe hält (zusf. Lit. siehe bei 2).

Derartige Eisenrezepturen erfreuten sich nicht zuletzt deshalb großer Beliebtheit, weil sie wesentlich bekömmlicher waren als die bis dahin empfohlene Benutzung des "Schreckwassers" der Eisenverhüttung, die auf Paracel-

sus zurückgeht (Zit. nach 24). Wenn man die gegenwärtig gebräuchlichen Eisenpräparate unseres Arzneimittelschatzes durchmustert, dann stellt man fest, daß sie im Grunde die gleichen Verbindungen enthalten, die bereits in den erwähnten alten Rezepturen enthalten waren: im Wesentlichen handelt es sich um Eisenverbindungen mit Polyoxycarbonsäuren und Aminosäuren. Sie sind auch heute noch - in chemisch reiner Form - offensichtlich die Mittel der Wahl.

Derartige Eisenverbindungen sind - entgegen der landläufigen Meinung - nicht etwa besonders gut resorbierbar; sie halten vielmehr Eisen im Magen-Darmtrakt in einer für die Resorption geeigneten Form verfügbar (3, 4). In der Mucosa des Duodenums und des oberen Jejunums existiert ein System, das an den Bedarf des Organismus angepasst Eisen aufnehmen und zur Blutseite hin transportieren kann (5 - 10). Dieses System übernimmt das in geeigneter Form im Darmlumen angebotene Eisen und ist offenbar für dessen Inkorporation in den Organismus verantwortlich.

Es hat bisher nicht an Versuchen gefehlt, ein Eisenpräparat zu entwickeln, das per se gut resorbierbar ist, oder das mit anderen Worten sein Eisen nicht an dieses System in der Mucosa abgibt, sondern das gewissermassen an ihm vorbei durch die Darmwand tritt und inkorporiert wird. Bisher war noch keinem derartigen Präparat bei der therapeutischen Anwendung ein dauer-



Tris-8-hydroxychinolin-Fe(III)-Komplex

Abbildung 1

hafter Erfolg beschieden. Die Gründe dafür sind einfach: das Eisen derartiger Verbindungen, die in der Regel sehr stabile Chelate sind, wurde im Organismus nur ungenügend utilisiert, d.h. zur Synthese von Hämoglobin benutzt, z.T. deshalb, weil diese Chelate in einem hohen Prozentsatz, wie etwa der EDTA-Eisen-Komplex (2), Ferrocen (11) oder der Sorbit-Zitronensäure-Eisen-Komplex (12) mit dem Urin wieder ausgeschieden werden.

In einer vorausgehenden Publikation (13, 14) wurde erstmals über ein Eisen-Komplex berichtet, der gut resorbierbar ist und nicht wieder ausgeschieden wird, den Fe(III)-Komplex des 8-Hydroxychinolins, dessen Formulierung als 3:1-Komplex der Abbildung 1 zu entnehmen ist. In der erwähnten Publikation wurde bereits über orientierende Versuche zur Prüfung der Utilisation des 8-Hydroxychinolin-Fe(III)-Komplexes berichtet (13); dabei wurde eine bevorzugte Anreicherung des komplexgebundenen Eisens in der Leber beobachtet.

Der Zweck der vorliegenden Untersuchung ist es, die damalige Beobachtung näher zu analysieren. Insbesondere sollte die Frage geprüft werden, ob das als Fe(III)-8-Hydroxychinolin-Komplex (Fe(III)-8-OH-chinolin) angebotene Eisen in vergleichbarer Weise utilisiert, d.h. zur Hämoglobinsynthese benutzt wird, wie freies, nicht komplexgebundenes Eisen.

Zu diesem Zweck wurde die Verteilung von freiem und komplexgebundenem Eisen auf die Organe normaler Ratten mit ausgeglichener Eisen-Bilanz und eisenarmer Tiere, die durch eine eisenarme Kost und wiederholte Aderlässe anämisch gemacht worden waren, mit Hilfe von radioaktiv markiertem ^{59}Fe 3, 24 und 120 Stunden nach der Applikation untersucht. Die ^{59}Fe-Aufnahme in die roten Blutzellen ist dabei ein direktes Maß für die Utilisation des angebotenen Eisens.

III. METHODEN

1.) Versuchstiere und deren Fütterung:

In allen Versuchen wurden weibliche Wistarratten (R. REUPOHL, Lage/Lippe) verwendet. Ein Teil der Versuche wurde mit eisenarmen Tieren durchgeführt. Das Körpergewicht der Tiere betrug durchschnittlich 140 bis 180 g (vergl. Tab. 1). Zur Erzeugung der Eisenarmut bei Ratten wurde das bereits ausführlich publizierte Verfahren (15) wiederholter Aderlässse aus der Zungenvene und einer eisenarmen Ernährung angewendet. Nach durchschnittlich 6 - 8 Aderlässen im Zeitraum von 3 - 4 Wochen und der Fütterung einer eisenarmen Diät, die im wesentlichen aus Vollmilchpulver und Maisstärke bestand, sank der Hämoglobinwert im Blut auf 40 - 50 % der Norm ab. Mit diesem

Tabelle I: Hämatologische Daten normaler (n) und eisenarmer (a) Ratten

Die Zahlen sind die Mittelwerte von 8-24 Tieren ± der Standardabweichung σ.

	Hämoglobingehalt g/100 ml Blut	Hämatokrit %	Erythrozytenzahl Mill. pro mm^3	Eisengehalt des Plasmas µg/100 ml	freie Eisenbindungskapazität des Plasmas µg/100 ml
n	14,5	41	6,2	172	295
	± 0,5	± 6	±0,9	±39	± 62
a	4,5	21	4,3	43	434
	± 0,7	± 2	±0,3	± 18	±73

Hämoglobinwert wurden die Tiere für die Versuche benutzt. Die wichtigsten hämatologischen Daten der normalen und eisenarmen Ratten sind in der Tabelle I zusammengefaßt.

2.) Eisenlösungen:

Zur intravenösen Injektion freien Eisens wurden 0,18 µMol (= 10 µg) ^{59}Fe-($FeCl_3$) in 1 ml physiologischer Kochsalz-Lösung gelöst, deren pH-Wert mit einigen Tropfen n/10 HCl auf 2 gebracht worden war. Dadurch wurde einmal die Lösung der Fe^{3+}-Ionen gewährleistet; zum anderen hat sich gezeigt, daß Fe^{3+}, das in Lösungen mit höheren pH-Werten als 2 injiziert wurde, bevorzugt im reticuloendothelialen System des Organismus abgelagert wird (16). Die Eisendosis ist so bemessen, daß bei einer normalerweise vorhandenen ungesättigten Eisenbindungskapazität von 2,9 µg/ml Plasma (vergl. Tab. I) und bei einer Blutmenge von ca 6 % des Körpergewichtes sowie einem Hämatokritwert von durchschnittlich 0,4 die Eisenbindungskapazität des Plasmas nicht überschritten wird: der sich aus diesen Werten für normale Tiere ergebenden freien Bindungskapazität für Eisen von insgesamt 25 - 30 µg Eisen, steht eine Dosis von 10 µg gegenüber. Bei eisenarmen Tieren beträgt die freie Bindungskapazität für Eisen, bei einem Gewicht der Ratten zwischen 140 - 180 g, 36 - 47 µg.

8-OH-chinolin wurde dem Eisen in 20-fachem Überschuß (auf molarer Basis berechnet) zugesetzt. Der pH-Wert der Flüssigkeit wurde in diesem Fall auf 2,5 - 3 eingestellt, weil in diesem Milieu der Fe(III)-8-OH-chinolin-Komplex in Lösung gebracht werden kann. Es bildet sich ein in der Lösung blaugrün gefärbter Komplex, der bei diesem pH-Wert offenbar gut wasserlöslich ist. Dabei dürfte es sich um den Mono- oder Bis-8-OH-chinolin-Fe(III)-Komplex handeln, bei denen die nicht besetzten Koordinationsstellen des Eisens mit Cl^- oder OH^--Ionen besetzt sind. Bei Erhöhung des pH-Wertes der Lösung auf 5 - 6 verfärbt sich der Komplex über schmutzig grün bis schwarz und fällt wasserunlöslich aus. Dann liegt offenbar der Tris-8-OH-chinolin-Fe(III)-Komplex vor (vergl. Abb. 1), der elektroneutral, schlecht wasserlöslich, dagegen aber in organischen Lösungsmitteln (Chloroform) gut löslich ist.

Zur oralen Applikation von freiem Eisen wurden 0,36 µMol (= 20 µg) ^{59}Fe-($FeCl_3$) in 2 ml Flüssigkeit mit der Schlundsonde verabreicht. Die Flüssigkeit bestand aus physiologischer Kochsalzlösung, der zur Lösung des Komplexbildners pro 100 ml 5 ml Propylenglycol zugesetzt worden waren. Der pH-Wert dieser Lösung wurde durch Zusatz von 1 ml 1 n HCl pro 100 ml auf pH 2 - 2,2 gebracht. 8-OH-chinolin wurde in diesen Versuchen in einem 20-fachen Überschuß dem Eisen zugesetzt. In diesem Fall wurde der pH-Wert der Lösung auf pH 2,5 - 3 eingestellt

3.) Versuchsanordnung:

Die retinierte Menge des angebotenen radioaktiven Eisens wurde in einer Ganzkörpermessung der ^{59}Fe-Aktivität 120 Stunden nach der Applikation bestimmt. Zur Beurteilung der Utilisation des radioaktiven Eisens wurde 1 ml Blut zu bestimmten Zeiten nach der Applikation durch Herzpunktion gewonnen. Danach wurde die Hauptschlagader der Tiere geöffnet und nach dem Ausbluten die Organe entnommen, die unter fließendem Wasser von äußerlich anhaftendem Blut gereinigt wurden.

4.) Messung der Radioaktivität:

1 ml Blut wurde in 4 ml physiologische Kochsalzlösung gegeben, der zur Verhinderung der Gerinnung 400 mg/l Polyäthylensulfonsäure (Fa. Hoechst) zugesetzt worden waren. Die Blutzellen wurden abzentrifugiert und 2 ml des Überstandes zur Bestimmung der Radioaktivität des Plasmas gemessen; die Meßwerte wurden mit Hilfe des Hämatokritwertes auf den Gesamtgehalt an Radioaktivität des Plasmas von 1 ml Blut umgerechnet. Die Blutzellen wurden 3 mal mit der Kochsalzlösung gewaschen; anschließend wurde die Radioaktivität der Zellen gemessen. Der Einfachheit halber wurde die so gewonnenen Ergebnisse als Gehalt an Radioaktivität in den roten Blutzellen betrachtet und nicht eigens zwischen dem - verschwindend

geringen - Anteil der weißen Blutzellen und dem überwiegender roten Zellen an der Radioaktivität unterschieden.

In der gleichen Messanordnung wurde die Radioaktivität von Leber, Milz, Lunge, den Nieren, des Magen-Darmtraktes, von Herz und Gehirn sowie zur Beurteilung der Aufnahme von ^{59}Fe in das blutbildende Mark von einem Femurknochen (li) gemessen. Ebenso wurde die Radioaktivität der eviscerierten Kadaver bestimmt. Mit Hilfe eines Standards, der die verabreichte Radioaktivität in einer derjenigen der Messproben vergleichbaren geometrischen Anordnung enthielt, wurden die gemessenen Impulszahlen in % der verabreichten Dosis umgerechnet. Für die Messwerte der Blutzellen, des Plasmas und des Femurknochens wurde die verabreichte Radioaktivität in 10 ml Fiolax-Reagenzgläsern (2 ml Füllung) gemessen, für die restlichen Organe diente ein Schälchen (2 cm Durchmesser) als Standard, auf dem die ^{59}Fe-Aktivität 5 Stunden bei 80^{o} C eingetrocknet worden war. Als Standard bei der Ganztiermessung bzw. der Messung der eviscerierten Kadaver diente eine Plastikflasche mit 250 ml Inhalt, die der Größe der Ratten entsprach; diese Flasche enthielt die verabreichte Radioaktivitätsdosis in n/10 HCl.

5.) Berechnung und Korrektur der Messwerte:

Will man ein Urteil darüber abgeben, wieviel Eisen einer verabreichten Dosis zur Hämoglobinbildung verwertet wurde, muß man den Gesamt-Blutgehalt der Tiere kennen. Der Blutgehalt der normalen und eisenarmen Ratten wurde mit Hilfe von ^{131}J-markiertem Albumin (human) bestimmt. Hierzu wurden jeweils 0,3 ml einer mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnten Lösung in die Schwanzvene der Tiere injiziert und 2 min später die Radioaktivität im Blut gemessen. Zur Bestimmung des Restblutgehaltes der Organe nach dem Ausbluten der Tiere wurde die ^{131}J-Aktivität auch in Leber, Milz, Nieren und Lunge gemessen.

Zum Vergleich der Ergebnisse mit ^{131}J-Albumin wurde in einer 2. Versuchsreihe die Gesamtblutmenge sowie der Restblutgehalt in den Organen mit ^{59}Fe-markierten Reticulozyten bestimmt (Lit. zur Methode der Volumenbestimmung siehe bei 26). Hierzu wurde Ratten aus der Schwanzvene jeweils 1 ml Blut entnommen. Dieses Blut wurde mit trägerfreiem ^{59}Fe 30 min bei 37° C incubiert. Die Blutzellen wurden anschließend 3 mal in eiskalter physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und anschließend in Tyrode-Lösung mit Fe-freiem Transferrin (Kanin, Fa. Behringwerke) - 0,2 % - reinjiziert. Zur Entfernung von EDTA-Resten aus dem Transferrin, wurde 24 Stunden gegen physiol. Kochsalz-

lösung dialysiert, die anfänglich in Abständen von 3 x 4 Stunden erneuert wurde. Die Werte, die mit beiden Methoden erzielt wurden, sind in der Tabelle 1 zusammengefaßt (vergl. Tabellenanhang).

Es ergab sich, daß der Gesamtblutgehalt normaler und eisenarmer Ratten mit beiden Methoden auf etwa 6 % des Körpergewichtes zu veranschlagen ist. Dieser Wert stimmt mit den Angaben in der Literatur gut überein (17). Der Restblutgehalt betrug in der Leber durchschnittlich 1 ml, in der Lunge 0,4 ml, in der Milz 0,5 ml und in den Nieren 0,3 ml. Der Restblutgehalt im Femurknochen wurde mit der ^{59}Fe-Methode bestimmt und ergab 0,05 ml.

Aufgrund dieser Angaben wurde 1.) die insgesamt in die roten Blutzellen aufgenommene, d.h. utilisierte ^{59}Fe-Aktivität berechnet und 2.) eine Korrektur der Messwerte der noch Restblut enthaltenden Organe Leber, Lunge und Nieren ermöglicht. Der Einfachheit halber wurde zur Abschätzung der über den Blutgehalt hinaus in den Organen enthaltenen Radioaktivität von den Mittelwerten der Ergebnisse die dem Blutgehalt entsprechende Impulszahl abgezogen (vergl. Abb. 2 und 3).

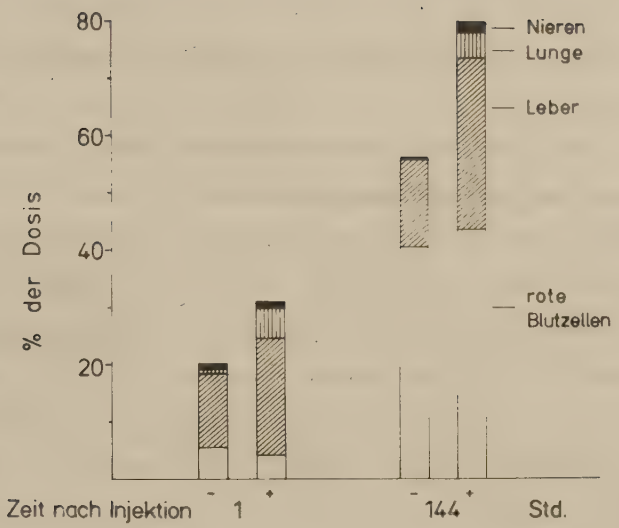


Abbildung 2:

Der ^{59}Fe-Gehalt im Gesamtblut sowie der korrigierte Gehalt in Leber, Lunge und Nieren nach i.v. Injektion von ^{59}Fe-($FeCl_3$) bzw. ^{59}Fe-($FeCl_3$) zusammen mit 8-OH-chinolin.

Der Gesamtblutgehalt der Tiere wurde mit 6 % des Körpergewichtes angenommen (vergl. Tab. 1). Zur Korrektur der Mittelwerte der Tabelle wurde die dem Restblutgehalt der Organe (vergl. Tab. 1) entsprechende Impulszahl abgezogen. Die Werte wurden anschließend in % der Dosis umgerechnet. - unter den Säulen bedeutet Gabe von Eisen ohne und + mit 8-OH-chinolin-Zusatz. Fe-Dosis: 0,18 µM ^{59}Fe-($FeCl_3$). 8-OH-chinolin/Fe = 20/1 (vergl. Tab. 2).

IV. ERGEBNISSE

1.) Die Verteilung von ^{59}Fe nach i.v. Injektion:

Will man sich einen Überblick darüber verschaffen, wie sich komplexgebundenes Eisen im Organismus verhält, dann prüft man am einfachsten die Verteilung von radioaktiv markiertem Eisen im Organismus nach intravenöser Injektion. In die Schwanzvene von Ratten wurden 1 ml physiologische Kochsalzlösung injiziert, die 0,18 µM/ml ^{59}Fe-($FeCl_3$) enthielt; der pH-Wert der Lösung betrug 2. Einer zweiten Gruppe von Tieren wurde eine Lösung injiziert, die zusätzlich zum Eisen einen 10-fachen Überschuß von 8-OH-chinolin enthielt; der pH-Wert dieser Lösung lag zwischen 2,5 und 3 (vergl. hierzu Methode Seite 7 - 8). Nach 1 und 144 Stunden wurde ein Teil der Tiere getötet und die Radioaktivität in den einzelnen Organen bestimmt. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 2 im Tabellenanhang zusammengefaßt. Des leichteren Verständnisses wegen wurden die Werte für die roten Blutzellen, für Leber, Lunge und für die Nieren - der für unsere Betrachtung wichtigsten Organe - nach Korrektur auf den Restblutgehalt der Organe (vergl. hierzu Methode Seite 11 - 12) in % der Dosis umgerechnet und in der Abbildung 2 graphisch dargestellt.

1 Stunde nach der Injektion freien, d.h. nicht komplexgebundenen Eisens sind bereits 5,8 % der verabreichten Dosis in den roten Blutzellen enthalten. Der Hauptteil der Eisen-Dosis befindet sich in der Leber - 13 % der Dosis - im Plasma - 14 % der Dosis - und im blutbildenden Knochenmark (vergl. Tab. 2).

Hier sei beiläufig darauf hingewiesen, daß der Gehalt an ^{59}Fe-Aktivität im blutbildenden Mark auf - grund älterer Untersuchungen berechnet wurde (3), die ergaben, daß der Anteil der ^{59}Fe-Aktivität eines Femurknochens an derjenigen des gesamten Skelettes 7 % beträgt. Im Folgenden wird jedoch auf die Angabe des ^{59}Fe-Gehaltes des Skelettes verzichtet, weil bei dem Vergleich mit der 8-OH-chinolin-Gruppe nicht sicher entschieden werden kann, ob unter diesen Bedingungen die ^{59}Fe-Aufnahme - das ist unter diesen Umständen nämlich die Aufnahme des lipoidlöslichen Fe-Komplexes - ins blutbildende Mark gleich groß ist.

6 Tage nach der Injektion (= 144 Std.) ändert sich das Bild der ^{59}Fe-Verteilung: die roten Blutzellen enthalten jetzt 40 % der Dosis; im Plasma und im Femurknochen ist keine nennenswerte Radioaktivität mehr enthalten. Der Anteil der Radioaktivität in der Leber ist auf 16 % angestiegen. Nach der Korrektur auf den Restblutgehalt enthält die Lunge keine messbare Radioaktivität. Die ^{59}Fe-Aktivität in den Nieren ist im Vergleich mit dem 1-Stunden-Wert etwa gleich geblieben.

Stellt man diesem Verteilungsmuster des Eisens diejenige des 8-OH-chinolin-Fe(III)-komplexes gegenüber, dann fallen folgende wesentliche Unterschiede ins Auge. 1.) Nach 1 Stunde ist die ^{59}Fe-Aktivität in der Lunge fast 10 mal größer als die bei der Kontrollgruppe; die Radioaktivität in den Nieren ist 4 mal höher, im Magen-Darmtrakt ist sie gerade doppelt so hoch und in der Leber ist sie 1,7 mal höher. Dagegen scheint unter diesen Bedingungen die ^{59}Fe-Aktivität im Blut und im Femurknochen im Vergleich mit der Kontrollgruppe nicht höher zu sein. 2.) Nach 6 Tagen hat sich das Bild wesentlich geändert: Die Leber enthält fast 1/3 der verabreichten Dosis; der Anteil der ^{59}Fe-Aktivität in den Nieren ist auf 3,7 % angestiegen, derjenige in der Lunge ist auf 2,5 % der Dosis abgefallen. 3.) Betrachtet man den ^{59}Fe-Anteil, der in den in der Abbildung 2 enthaltenen Organen, rote Blutzellen, Leber, Lunge und Nieren, vorgefunden wurde, dann fällt auf, daß nach Gabe des 8-OH-chinolin-Fe(III)-Komplexes ca 25 % mehr Radioaktivität in diesen Organen ist als nach Gabe freien Eisens. Eine Erklärung für diesen Unterschied kann aufgrund der vorliegenden Daten nicht gegeben werden, weil in diesen Untersuchungen nicht die Radioaktivität aller Organe inklusive des Kadavers bestimmt wurde. Hier kann nur soviel gesagt werden, daß offenbar der 8-OH-chinolin-Fe(III)-Komplex gerade in Leber, Lunge und Nieren in stärkerem Maße angereichert wird, als freies Eisen, das wahrscheinlich in der

Muskulatur, aber auch im übrigen reticuloendothelialen System, z.B. der Milz, gefunden werden dürfte.

Daß nach Gabe des 8-OH-chinolin-Fe(III)-Komplexes die ^{59}Fe-Aktivität in höherem Maße in der Leber vorgefunden wird als nach Gabe freien Eisens, war aus den vorausgehenden Untersuchungen schon bekannt (13). Neu ist in diesen Resultaten die - absolut nicht so sehr ins Gewicht fallende - im Vergleich mit den Kontrollen vielfach höhere Aufnahme des komplexgebundenen Eisens in die Lunge und die Nieren, sowie in den Magen-Darmtrakt - soweit es die 1-Stunden-Werte betrifft (vergl. Tab. 2).

Hier sei noch angefügt, daß die Messung der ^{59}Fe-Aktivität im epidydimalen Fettgewebe etwa gleich groß war, gleichgültig, ob das Eisen frei oder komplexgebunden injiziert worden war. Im Urin der Ratten wurden 3 Stunden nach der Injektion des freien Eisens 0,3 % der Dosis und nach Injektion des 8-OH-chinolin-Fe(III)-Komplexes nur 0,07 % der Dosis gefunden, d.h. der Komplex wird nicht über die Nieren ausgeschieden, sondern er verbleibt im Organismus. Zu diesen Versuchen wurden jeweils 5 Tiere verwendet; die Streuung der Mittelwerte betrug nie mehr als 12 %. Zum Vergleich sei erwähnt, daß in der gleichen Versuchsanordnung vom ^{59}Fe-EDTA-Komplex (Lig/Fe = 100/1) innerhalb von 3 Stunden 11 % der Dosis mit dem Urin bereits wieder ausgeschieden wurden (3).

Die Tatsache, daß der 8-OH-chinolin-Fe(III)-Komplex retiniert wird und den Organismus nur langsam verlässt, geht aus der Abbildung 3 hervor. In dieser Abbildung sind die Ergebnisse eines Versuches zusammengefaßt, in dem die Retention freien und 8-OH-chinolin-gebundenen Eisens nach intravenöser Injektion miteinander verglichen wurde. 12 Tage nach der Applikation hat in beiden Gruppen die retinierte ^{59}Fe-Menge um 5 - 6 % der ursprünglich verabreichten Dosis abgenommen. Demnach verlässt das als 8-OH-chinolin-Fe(III)-Komplex verabreichte Eisen den Organismus im geprüften Zeitraum mit der gleichen Geschwindigkeit, wie das in ionisierter Form verabreichte Eisen.

2.) Verteilung von ^{59}Fe nach oraler Applikation:

Im Anschluß an die erste Versuchsreihe stellte sich nun die Frage, ob das in der Leber, Lunge und den Nieren deponierte Eisen nach Gabe des 8-OH-chinolin-Fe(III)-komplexes dort verbleibt, oder ob es im Bedarfsfalle mobilisiert werden kann. Zur Prüfung dieser Frage wurde die Verteilung von freiem und komplexgebundenen Eisen bei normalen und eisenarmen Ratten geprüft. In diesem Falle wurde die Eisen-Dosis oral verabreicht.

Um 8-OH-chinolin, das dem Eisen in einem 20-fachen Überschuß zugesetzt wurde, in Lösung zu bringen, wurde der Flüssigkeit 5 % Polyäthylenglycol zugesetzt; der

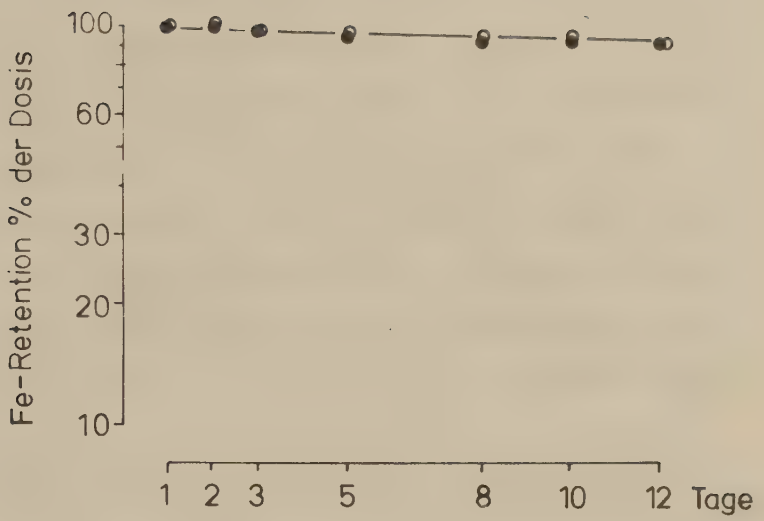


Abbildung 3:

Retention von Eisen nach intravenöser Injektion bei Ratten.

Eisendosis: 0,18 µMol ^{59}Fe-($FeCl_3$) in 1 ml, pH 2 (o); bzw. 0,18 µMol ^{59}Fe-($FeCl_3$) + 8-OH-chinolin; Lig/Fe = 10/1, in 1 ml, pH 2,7 (o). Ordinate: Eisen-Retention in % der Dosis; Abszisse: Zeit in Tagen. Die Punkte sind die Mittelwerte von je 5 Tieren; die Standardabweichung σ betrug nie mehr als 3 % des Mittelwertes.

Vergleichbarkeit der Bedingungen wegen, wurde dieser Zusatz auch bei der Kontrollgruppe verwandt, die freies Eisen enthielt. Die Eisen-Dosis betrug in dieser Versuchsreihe 0,36 µM, die in einem Volumen von 2 ml Flüssigkeit mit der Schlundsonde verabreicht wurden. Die Ergebnisse sind in den Tabellen 3, 4 und 5 (siehe Tabellenanhang) zusammengefaßt und in der Abbildung 4 graphisch dargestellt, wobei die Werte für Leber, Lunge und Nieren wiederum auf den Restblutgehalt der Organe korrigiert wurden (vergl. Methoden Seite 11 - 12).

Aus der Tabelle 3 geht hervor, daß normale Ratten 5 Tage nach der oralen Gabe 35 % mehr Eisen resorbiert und retiniert haben, wenn das Eisen nicht frei, sondern als 8-OH-chinolin-Fe(III)-Komplex angeboten wurde; diese Beobachtung bestätigt die bereits erwähnten Befunde der vorausgehenden Publikation (13). Dagegen besteht offenbar kein Unterschied in der Resorption und Retention von Eisen, das eisenarmen Ratten verabreicht wurde, unabhängig davon, ob es frei oder komplexgebunden war.

Der Tabelle 4 und der Abbildung 4 kann entnommen werden, daß die Verteilung des radioaktiven Eisens bei normalen Tieren in der Anfangszeit des Versuches weitgehend nach dem gleichen Prinzip erfolgt, das wir bereits bei der intravenösen Applikation kennen gelernt haben; das trifft für die Verteilung des freien und des

komplexgebundenen Eisens zu. Auch nach der oralen Applikation wird im Vergleich mit der Kontrollgruppe das komplexgebundene Eisen vermehrt in der Leber, der Lunge und in den Nieren deponiert. Ein Unterschied im Vergleich mit dem Verteilungsmuster des Eisens nach intravenöser Gabe besteht insofern, als der ^{59}Fe-Gehalt in Lunge und Nieren mit der Zeit absinkt; in der gleichen Zeit nimmt der Gehalt an ^{59}Fe nur in den roten Blutzellen zu (vergl. Abb. 4). Nach 120 Stunden ist die ^{59}Fe-Aktivität in Lunge und Nieren zwar mit einem p-Wert $\leq$ 0,05 gerade noch statistisch signifikant vom Wert der Kontrollgruppe unterschieden (vergl. Tab. 4), nach der Korrektur der Werte bleibt jedoch in beiden Gruppen keine ^{59}Fe-Aktivität mehr übrig (vergl. Abb. 4), die über den Restblutgehalt der Organe hinausgeht.

Beiläufig sei hier auf zweierlei hingewiesen: 1.) Die Aufnahme von ^{59}Fe in die Erythrozyten ist zu jedem geprüften Zeitpunkt immer etwa gleichgroß, unabhängig davon, ob freies oder komplexgebundenes Eisen verabreicht wurde. Dieses Resultat ist deshalb bemerkenswert, weil nach Gabe des Eisenkomplexes die insgesamt inkorporierte Menge größer ist als nach Gabe des freien Eisens. Das bedeutet, daß in diesem Falle für die Utilisation des Eisens nicht die resorbierte Menge, sondern die Geschwindigkeit der Neusynthese von Hämoglobin bestimmend ist. Diese Frage, die gerade unter

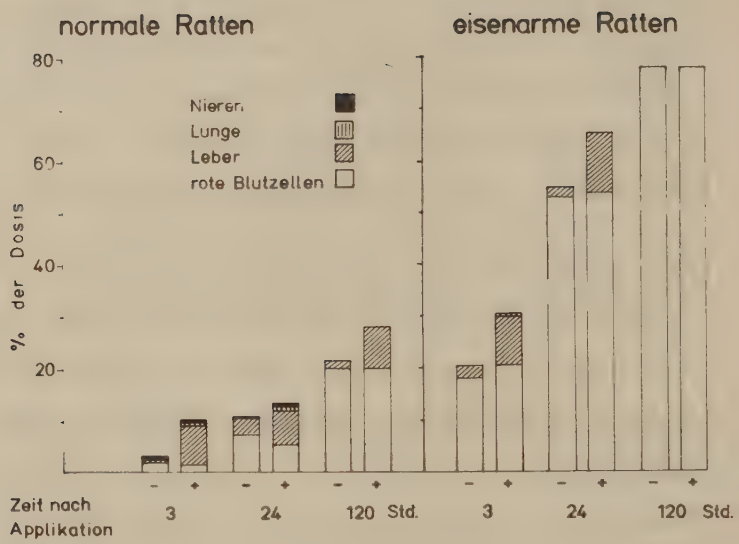


Abbildung 4:

Der ^{59}Fe-Gehalt im Gesamtblut sowie der korrigierte Gehalt in Leber, Lunge und Nieren bei normalen und eisenarmen Ratten nach oraler Verabfolgung von ^{59}Fe-($FeCl_3$) bzw. ^{59}Fe-($FeCl_3$) zusammen mit 8-OH-chinolin.

Der Gesamtblutgehalt der Tiere wurde mit 6 % des Körpergewichtes angenommen (vergl. Tab. 1). Zur Korrektur der Mittelwerte der Tabelle wurde die dem Restblutgehalt der Organe (vergl. Tab. 1) entsprechende Impulszahl abgezogen. Die Werte wurden anschließend in % der Dosis umgerechnet. - unter den Säulen bedeutet Gabe des Eisens ohne und + mit 8-OH-chinolin-Zusatz. Fe-Dosis: 0,36 µM ^{59}Fe-($FeCl_3$). 8-OH-chinolin/Fe = 20/1 (vergl. Tab. 4 und 5).

therapeutischen Gesichtspunkten von besonderem Interesse ist, wird noch im Einzelnen untersucht werden müssen. 2.) Die Radioaktivität der Kadaver der Ratten, die den Eisenkomplex erhielten, ist 3 und 24 Stunden nach der Applikation, statistisch gesichert, höher als diejenige der Kontrollgruppe. Nach 120 Stunden ist dieser Unterschied nicht mehr signifikant. Diese Differenz ist in erster Linie die Folge der gesteigerten Resorption des komplexgebundenen Eisens (vergl. Tab. 3). Zu Beginn des Versuches, d.h. 3 Stunden nach der oralen Gabe ist in der 8-OH-chinolin-Gruppe der ^{59}Fe-Gehalt in den Kadavern fast doppelt so hoch wie derjenige der Kontrollen; dieses Verhältnis nimmt mit der Zeit ab: 24 Stunden nach der Applikation beträgt es noch 1,5 und 5 Tage danach nur noch 1,3. Offenbar wird der rasch resorbierte, apolare, d.h. lipophile 8-OH-chinolin-Fe(III)-Komplex zunächst im Gewebe deponiert. In diesem Zusammenhang sei auch der hohe ^{59}Fe-Gehalt von Herz und Gehirn der Gruppe erwähnt, die den Fe-Komplex erhielt. Für das Gehirn ging allerdings bereits nach 24 Stunden der Unterschied im Gehalt an Radioaktivität zwischen der Kontrollgruppe und der 8-OH-chinolin-Gruppe verloren; deshalb wurde auf diese Bestimmung im weiteren Verlauf der Untersuchung verzichtet.

Eine Besonderheit zeigt der Verlauf des ^{59}Fe-Gehaltes im Magen-Darmtrakt während des Versuches: er

ist in der Gruppe, die den Fe-Komplex erhielt, zunächst niedriger (3-Stunden-Wert, Tab. 4), nach 24 Stunden ist er gleich groß und nach 120 Stunden ist er 3 - 4 mal höher als derjenige der Kontrollen. Die vorliegenden Daten geben keinen Anhaltspunkt für eine Deutung dieser Differenz zwischen Kontrollgruppe und 8-OH-chinolin-Gruppe. Zur Aufklärung dieser Ursachen für diese Erscheinung müssen noch weitere Untersuchungen durchgeführt werden.

Der wichtigste Teil der Ergebnisse dieser Versuchsreihe ist der Vergleich der Verteilung der Radioaktivität nach Gabe freien und komplexgebundenen Eisens bei eisenarmen Ratten (vergl. Tab. 5 und Abb. 4). 3 Stunden nach der oralen Verabfolgung enthalten auch bei eisenarmen Ratten, die den 8-OH-chinolin-Komplex erhielten Leber, Nieren und Herz statistisch gesichert höhere ^{59}Fe-Aktivitäts-Werte als die Kontrollen; die Differenz im Gehalt an Radioaktivität in der Lunge ist zwischen beiden Gruppen statistisch nicht gesichert. Im Vergleich mit den normalen Tieren (vergl. Tab. 4 und Abb. 2) sind jedoch die Unterschiede, was die Leber, die Nieren, das Herz und auch die Lunge betrifft, bei den eisenarmen Ratten nicht so groß. Betrachtet man die Verhältnisse beispielsweise bei der Leber, dann ergibt sich bei normalen Ratten in der 8-OH-chinolin-Gruppe ein fast 10 mal höherer ^{59}Fe-Gehalt im Vergleich mit den Kontrollen, während bei den

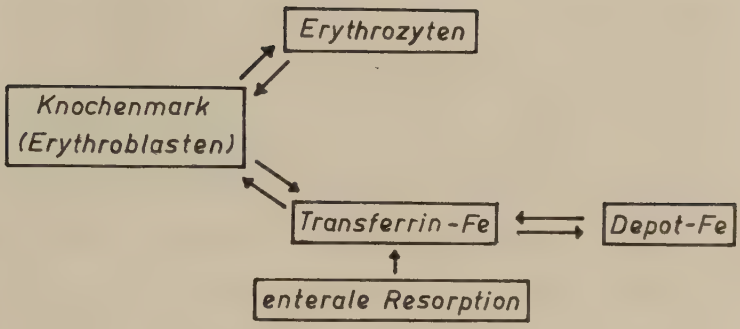

Erythrozyten
Knochenmark
(Erythroblasten)
Transferrin-Fe
Depot-Fe
enterale Resorption

Abbildung 5:

eisenarmen Tieren nur ein ca 3 mal höherer Gehalt an Radioaktivität berechnet werden kann; diesem Vergleich sind die korrigierten Daten der Abb. 4 zugrunde gelegt. Das bedeutet, daß im Eisenmangel auch das komplexgebundene Eisen in weit größerem Ausmaß verwertet wird als normalerweise, was angesichts der hohen Stabilität des Komplexes besonders bemerkenswert ist.

Im Laufe der Zeit verändert sich auch bei den eisenarmen Ratten das Verteilungsmuster des radioaktiven Eisens. Hier kann nicht auf alle Einzelheiten eingegangen werden, es sei sozusagen pauschal erwähnt, daß im Ganzen die Utilisation des Eisens, d.h. der Einbau ins Hämoglobin bei den eisenarmen Tieren rascher verläuft als bei den normalen, daß aber trotz der raschen Resorption in der 8-OH-chinolin-Gruppe die Einbaurate ins Hämoglobin nicht höher ist! Auch dieser Befund deutet darauf hin, daß unter diesen Bedingungen für die Utilisation nicht mehr das - offensichtlich völlig ausreichende - Angebot von Eisen die limitierende Größe ist, sondern die Geschwindigkeit der Hämoglobinsynthese. Hier sollen vor allem die Unterschiede im Verteilungsmuster der Tiere betrachtet werden, die den 8-OH-chinolin-Komplex enthielten. 24 Stunden nach der Applikation des Eisen-Komplexes besteht im Vergleich mit der Kontrollgruppe, die freies Eisen enthielt, kein Unterschied mehr hinsichtlich des Gehaltes an Radioaktivität in Nieren, Lunge und Herz. Nur der ^{59}Fe-

Gehalt der Leber ist zu diesem Zeitpunkt noch höher als bei den Kontrollen; dieser Unterschied ist aber 120 Stunden nach der Applikation auch nicht mehr vorhanden.

Der ^{59}Fe-Gehalt der Erythrozyten eisenarmer Tiere läßt zu keinem Zeitpunkt nach der oralen Gabe einen Unterschied zwischen Kontroll- und 8-OH-chinolin-Gruppe erkennen. M.a.W. heißt das, daß das frei und komplexgebunden angebotene Eisen zum Einbau ins Hämoglobin offensichtlich im gleichen Umfang und in der gleichen Geschwindigkeit verwertet wird.

V. DISKUSSION

Zum leichteren Verständnis der hier dargelegten Befunde sei hier das Wichtigste des Eisenstoffwechsels kurz rekapituliert (vergl. Abb. 5). Nach der Resorption wird Eisen normalerweise vom Transferrin dem eisenbindenden Protein des Plasmas übernommen und an die Stellen des Bedarfs gebracht, das sind vornehmlich die Stätten der Blutbildung. Dort wird Eisen ins Hämoglobin eingebaut. Anschließend kreist das Eisen in den roten Blutzellen, die es am Ende ihrer Lebensspanne im blutbildenden Mark für die Neubildung roter Blutzellen wieder verfügbar machen. Andere Stellen des Bedarfs für Eisen

sind verschiedene Gewebe, in denen Eisen z.B. für die Synthese von Myoglobin bzw. eisenhaltigen Enzymen benötigt wird. Überflüssiges Eisen wird in den Depots, vornehmlich in der Leber abgelagert, wo es als Ferritin und Hämosiderin vorliegt.

Im Eisenmangel wird Eisen, was auch aus den vorliegenden Befunden hervorgeht, rascher als im Normalfall in die roten Blutzellen übergeführt. Der wichtigste Befund dieser Untersuchungen ist darin zu sehen, daß der Organismus im Eisenmangel auch das als 8-OH-chinolin-Fe(III)-Komplex angebotene Eisen utilisiert; unter den hier gewählten Bedingungen offenbar nicht weniger schnell trotz schnellerer Aufnahme und genau so umfangreich wie freies, nicht komplexgebundenes Eisen.

Die Frage, wie der Organismus die Utilisation eines derartigen Eisen-Komplexes bewerkstelligt, läßt sich aus den vorliegenden Befunden nicht so ohne weiteres beantworten. Sie ist deswegen besonders interessant, weil der 8-OH-chinolin-Komplex eine so hohe Stabilität besitzt. Die Ergebnisse enthalten indes Hinweise, die für die Beantwortung dieser Frage nützlich sind. Setzt man die in den roten Blutzellen der Leber, der Lunge und in den Nieren, nach Abzug des auf den Restblutgehalt entfallenden Anteiles, vorhandene Radioaktivität (vergl. Abb. 4) gleich 100 % und rechnet den Anteil der

Radioaktivität in den Erythrozyten und der Leber in % aus, dann ergibt sich, daß im Eisenmangel der insgesamt in der Leber angereicherte Anteil des als 8-OH-chinolin-Komplexes verabreichten Eisens kleiner ist als bei normalen Tieren. Er beträgt beispielsweise 3 Stunden nach der Applikation weniger als die Hälfte des Wertes der normalen Ratten. Demgegenüber macht der in den Erythrozyten vorliegende Anteil des Eisens im Eisenmangel fast 70 % aus, d.h. er ist 4 - 5 mal höher als in der Gruppe der normalen Tiere. Das Eisen muß m.a.W. während oder unmittelbar nach der Resorption verfügbar gemacht worden sein, d.h. aus dem 8-OH-chinolin-Fe(III)-Komplex herausgelöst worden sein.

Der Mechanismus, mit dem der Organismus sich komplexgebundenes Eisen verfügbar machen kann, ist einstweilen noch unbekannt. M.a.W., läßt sich der Kern des Problems folgendermaßen formulieren: wie gelingt es dem Organismus, Eisen aus stabilen Komplexverbindungen heraus zu lösen. Es gibt Gründe für die Annahme, daß die Vorgänge, die für das Herauslösen des Eisens aus den Komplexen von Bedeutung sind, in erster Linie in folgenden Organen lokalisiert sind: 1. in der Mucosa des Darmes; sie enthält ein eisenbindendes System, das für die Resorption von Eisen verantwortlich ist (Lit. siehe bei 4). 2. In den Stätten der Blutbildung; es konnte nämlich nachge-

wiesen werden, daß z.B. Reticulozyten in vitro das als 8-OH-chinolin-Fe(III)-Komplex angebotene Eisen zur Hämoglobinsynthese verwerten können (18, 19). Ganz allgemein scheint eine gewisse Ähnlichkeit zwischen dem Mechanismus, der für den transzellulären Transport von Eisen durch die Mucosazellen verantwortlich ist, und demjenigen für die Inkorporation von Eisen in die unreifen Vorstufen der Erythrozyten zu bestehen (18, 19, 20). 3. In der Leber. Im Eisenmangel läuft in der Leber ein Mechanismus ab, der geradezu als Modellfall für die Mobilisation von Eisen aus einer stabilen Komplexverbindung betrachtet werden kann: die Mobilisation von Ferritin-Eisen (21, 22). Es ist nicht auszuschließen, daß der Mechanismus, der in der Leber die Freisetzung des komplexgebundenen Eisens bewirkt, auch in allen anderen Organen ablaufen kann, in denen der 8-OH-chinolin-Fe(III)-Komplex nach der Resorption zunächst deponiert worden ist.

Rein theoretisch besteht noch eine 4. Möglichkeit, nämlich der Austausch von Eisen zwischen dem 8-OH-chinolin-Fe(III)-Komplex und dem eisenbindenden Protein des Plasmas, dem Transferrin. Wahrscheinlich kommt dieser Möglichkeit hier nur eine geringe Bedeutung zu; sie wird deshalb im Folgenden außerhalb der Betrachtung gelassen. Der schwer wasserlösliche 8-OH-chinolin-Fe(III)-Komplex hat nur eine geringe Verweildauer in der Blutbahn, d.h. eine nur kurze Expositionszeit für einen

derartigen Austausch-Vorgang. Der Komplex wird rasch im Organgewebe (Leber, Lunge, Nieren etc.) deponiert. Bei der hohen thermodynamischen Stabilität des Komplexes - er liegt bei dem pH-Wert des Blutes als 3:1-Komplex vor - (log K = 37) ist nur mit einer geringen Austauschgeschwindigkeit zu rechnen; in vitro ergab sich beispielsweise für den Ferrioxamin B-Komplex (log K = 31) nach 7 Stunden noch kein nennenswerter Austausch mit Transferrin (25).

Bei der bereits erwähnten Mobilisation von Eisen aus dem Ferritin-Eisen-Komplex spielen, offensichtlich durch den Stoffwechsel im Eisenmangel begünstigt, reduktive Vorgänge eine Rolle, die eine Labilisierung des Ferritin-Komplexes zur Folge haben (21, 22). Es wäre denkbar, daß ähnliche Vorgänge auch bei der Mobilisierung des 8-OH-chinolin-gebundenen Eisens eine Rolle spielen. Eine rein theoretische Betrachtung besagt, daß eine Reduktion des Eisens im Tris-8-OH-chinolin-Fe(III)-Komplex die thermodynamische Stabilitätskonstante von 10^{37} auf 10^{22} verringert (23); d.h. der Komplex des 2-wertigen Eisens ist 10^{15} mal weniger "stabil" als der 3-wertige Eisen-Komplex. M.a.W. reduktive Vorgänge könnten auch diesen Komplex labilisieren, so daß er sein Eisen leichter freisetzen kann und zur Utilisation verfügbar macht.

Rein theoretisch könnte eine Labilisierung des Komplexes auch dadurch erfolgen, daß ein Teil der 8-OH-chinolin-Moleküle, die beim 3:1-Komplex die Koordinationsstellen des Metalls besetzt halten, durch andere Liganden ersetzt werden. M.a.W. heißt das, daß ein sogenannter Heterokomplex gebildet wird, dessen Stabilität in der Regel vielfach geringer ist. So sinkt beispielsweise die thermodynamische Stabilität des Tris-8-OH-chinolin-Fe(III)-Komplexes von 10^{37} auf 10^{14} ab (23), wenn der Mono-Komplex gebildet wird, bei dem die freien Koordinationsstellen des Eisens durch OH^--Ionen besetzt sind (sog. Aquokomplex). Bei der Freisetzung des Komplex-gebundenen Eisens in den Mucosazellen des Darmes (4) und bei der Utilisation des Eisenkomplexes durch Reticulozyten (18, 19) wird die Bildung sog. Heterokomplexe in erster Linie mit membranständigen Liganden erörtert, weil nachgewiesen ist, daß die Bindungsstellen für Eisen im Eisenmangel in den Membranen der Mucosazellen und der Reticulozyten zunehmen. Es ist aber keineswegs ausgeschlossen, daß im Zellstoffwechsel auch niedermolekulare Liganden - etwa Aminosäuren oder Polyoxycarbonsäuren - entstehen, die als Zwischenträger für Eisen z.B. zwischen den Ablagerungsstellen des 8-OH-chinolin-Eisen-Komplexes und dem Transferrin in Funktion treten können.

Wenn man sich die Eigenschaften des 8-OH-chinolin-Fe(III)-Komplexes vergegenwärtigt - gute Resorbierbarkeit, gute Retention und Utilisation des komplexgebundenen Eisens - dann könnte der Eindruck entstehen, es handle sich bei diesem Komplex um eine ideale Verbindung für die therapeutische Anwendung. Dieser optimistischen Betrachtung soll hier keineswegs das Wort geredet werden. Der 8-OH-chinolin-Fe(III)-Komplex kann bestenfalls als Modellfall dafür betrachtet werden, welche wesentlichen Eigenschaften eine gut resorbierbare und utilisierbare Eisenverbindung haben muß, wenn sie therapeutisch Verwendung finden soll. Es kann aber keinesfalls übersehen werden, daß im Eisenmangel - und das ist gerade die Situation, in der eine derartige Verbindung therapeutisch eingesetzt werden soll - die Utilisation des komplexgebundenen Eisens nicht besser ist als die des Eisens, das in saurer Lösung in 3-wertiger Form ohne Komplexbildner verabreicht wurde.

Die hier vorliegenden Ergebnisse nach i.v. und oraler Applikation an normalen und eisenarmen Tieren deutet darauf hin, daß die Utilisation des Eisens - ein ausreichendes Angebot vorausgesetzt - wie theoretisch zu erwarten, von der Einbaurate des Eisens ins Hämoglobin, d.h. von der Geschwindigkeit der Hämoglobinsynthese limitiert wird.

Die Resultate haben zweierlei Konsequenzen: 1.) Im Hinblick auf die Dosierung des Eisens zur Behebung eines Eisenmangels ist zu bedenken, daß offensichtlich ein Übermaß im Eisenangebot mit einer Verringerung des Grades der Utilisation einhergeht: Eisen, das nicht sofort verwertet werden kann, wird zunächst in den Organdepots abgelagert. Unter diesem Gesichtspunkt erscheint es lohnend, die gegenwärtig üblichen Dosierungsgebräuche in der Eisentherapie kritisch zu überdenken. Einmalige Gaben hoher Eisendosen bringen bei der unumgänglichen Therapie über längere Zeit die Gefahr des Ablagerns in den Organdepots mit sich. Viel sinnvoller erscheint die Aufteilung der Tagesdosis in mehrere Gaben.

2.) Es scheint im Eisenmangel garnicht so wichtig zu sein, in welcher Form das Eisen verabreicht wird; offensichtlich gewährleistet das eisenbindende System in der Mucosa im Eisenmangel in hohem Maße die Ausnutzung des oral verabreichten Eisens. Komplexbildner spielen demnach weniger für die Resorbierbarkeit des Eisens eine Rolle, als vielmehr unter pharmazeutisch technischen Gesichtspunkten für die Haltbarkeit der Präparate, ihre Verträglichkeit und ihre Fähigkeit, Eisen im Magen-Darmtrakt in resorbierbarer Form verfügbar zu halten. Unter diesen Voraussetzungen ist nur <u>ein</u> Fall denkbar, in dem ein Eisen-Komplex mit den Eigenschaften des 8-OH-chinolin-Komplexes thera-

peutisch sinnvoll eingesetzt werden könnte, nämlich dann, wenn nachgewiesenermaßen eine Malabsorption für Eisen bestände.

VI. TABELLENANHANG

Tabelle 1: Bestimmung des Blutgehaltes normaler (n) und anämischer (a) Ratten, sowie des Restblutes in Leber, Lunge, Nieren und im linken Femurknochen mit Hilfe von ^{131}I-markiertem Albumin (^{131}I) bzw. ^{59}Fe-markierten Reticulozyten (^{59}Fe).

Die Zahlen geben die Mittelwerte von 5 - 8 Ratten wieder ± der Standardabweichung σ. Für das Körpergewicht der Tiere wurde lediglich der Mittelwert berechnet; die Zahlen in Klammern geben das jeweils geringste bzw. größte Gewicht innerhalb der Gruppe an.

	Körpergewicht		Blutgeh. der Ratte in: ml		% des Körpergew.		Restblutgehalt in den Organen in ml: Leber		Lunge		Milz		Nieren		Femurknochen	
	n	a	n	a	n	a	n	a	n	a	n	a	n	a	n	a
^{131}I	157 (145-170)	166 (150-180)	9,6 ±0,75	10,0 ±0,88	6,2 ±0,4	6,1 ±0,46	1,0 ±0,2	0,9 ±0,3	0,4 ±0,04	0,4 ±0,04	0,3 ±0,09	0,3 ±0,08	0,4 ±0,07	0,4 ±0,02	-	-
^{59}Fe	169 (150-180)	163 (145-180)	10,4 ±2,4	9,2 ±1,4	6,1 ±1,7	5,8 ±0,8	1,1 ±0,2	1,0 ±0,1	0,4 ±0,3	0,3 ±0,3	0,3 ±0,4	0,3 ±0,3	0,2 ±0,1	0,3 ±0,2	0,08 ± 0,003	0,03 ±0,02

Tabelle 2: Der ^{59}Fe-Gehalt in den Organen 1 Std., sowie 144 Std. nach intravenöser Gabe von ^{59}Fe-($FeCl_3$) bzw. ^{59}Fe-($FeCl_3$) zusammen mit 8-OH-chinolin.

Die Zahlen (Imp/min) sind die Mittelwerte von je 5 Ratten (140 - 160 g Gewicht) ± der Standardabweichung σ; Fe-Dosis: 0,18 µM ^{59}Fe-($FeCl_3$) in 1 ml physiol. NaCl-Lösung (pH 2) entsprechend 460 000 Imp/min und ml; 8-OH-chinolin/Fe = 20/1; * = $p < 0{,}01$ gegen Kontrollen.

Zusatz	Zeit (Std.)	Ery. eines ml	Plasma Blutes	Femur-knochen	Leber	Nieren	Lunge	Magen-Darm-Trakt
ø	1	2780	6700	4800	60000	6600	6550	26000
		±1800	±2100	± 980	± 6800	± 650	±1020	± 6100
	144	19700	97	750	92000	8500	5000	--
		±4200	± 29	± 552	±21600	±2350	± 400	
8-OH-chinolin	1	2040	6100	4100	100000*	17500*	30500*	43000*
		± 430	±1200	±1050	±12500	±1690	±7500	± 8000
	144	21000	158	1450	162000*	18200*	25400*	--
		±8200	± 31	± 600	±38000	±5480	±3100	

Tabelle 3: Der ^{59}Fe-Gehalt der lebenden Tiere 120 Stunden nach oraler Verabfolgung von ^{59}Fe-($FeCl_3$) bzw. ^{59}Fe-($FeCl_3$) zusammen mit 8-OH-chinolin.

Die Zahlen sind die Mittelwerte von jeweils 5 Ratten (160-190 g Gewicht) ± der Standardabweichung σ. Der ^{59}Fe-Gehalt der Tiere wurde durch eine Ganztiermessung ermittelt und in % der verabreichten Dosis umgerechnet. Fe-Dosis: 0,36 µM ^{59}Fe-($FeCl_3$) in 2 ml Flüssigkeit (vergl. Methode Seite) entsprechend 270 000 Imp/min und ml; 8-OH-chinolin/Fe = 20/1 * = $p < 0,01$ gegen Kontrollgruppen; ** = $p < 0,01$ gegen die Gruppe mit normalen Tieren.

Zusatz	normale Ratten	eisenarme Ratten
	% der Dosis	
-	27,5 ± 5,2	92,0** ± 2,8
8-OH-chinolin	37,5* ±10,8	21,5** ± 2,7

Tabelle 4: Der ^{59}Fe-Gehalt in den Organen und den eviscerierten Kadavern nach oraler Gabe von ^{59}Fe-$(FeCl_3)_2$ sowie ^{59}Fe-$(FeCl_3)$ zusammen mit 8-OH-chinolin bei normalen Ratten.

Die Zahlen (Imp/min) sind die Mittelwerte von 5 - 6 Ratten (160 - 180 g Gewicht) ± der Standardabweichung σ. Fe-Dosis: 0,36 µM ^{59}Fe-$(FeCl_3)$ in 2 ml Flüssigkeit (vergl. Methode Seite) entsprechend 270 000 Imp/min und ml; 8-OH-chinolin/Fe = 20/1; * = $p < 0,01$ und (*) = $p < 0,05$ gegen Kontrollen.

Zeit Std.	Zusatz	Ery. eines ml	Plasma Blutes	Femur-knochen	Leber	Nieren	Lunge	Herz	Gehirn	Milz	Magen-Darm-Trakt	Kadaver
3	ø	511 ±327	470 ±120	1274 ± 191	2562 ± 627	448 ± 317	628 ±130	254 ±123	165 ± 60	1769 ±1393	240817 ± 8008	22700 ± 4500
	8-OH-chinolin	407 ±202	1010* ±365	2025* ± 636	22321* ±8819	1117* ± 213	1971* ±1064	558* ±125	739* ± 298	1658 ±1263	202646* ± 17971	43500* ±12700
24	ø	1864 ±863	108 ± 50	2481 ± 976	9700 ±4481	821 ± 268	750 ±202	448 ±110	320 ± 61	2215 ±1192	87594 ± 34658	48700 ±16200
	8-OH-chinolin	1351 ±869	150 ± 27	2331 ±1487	19025* ±6500	1905* ± 859	2395* ±1025	747* ±580	311 ± 32	2316 ±1596	72980 ±59245	72000* ± 7000
120	ø	4550 ±3500	77 ± 18	294 ± 130	8900 ±3900	840 ± 445	1030 ± 630	382 ±211	--	3000 ±1960	2540 ± 800	17000 ± 9200
	8-OH-chinolin	4500 ±1700	82 ± 59	316 ± 28	26500* ± 8800	1270(*) ± 425	1620(*) ±475	705* ±223	--	2290 ± 920	8300* ± 1620	21800 ± 7300

Tabelle 5: Der ^{59}Fe-Gehalt in den Organen und den eviscerierten Kadavern nach oraler Gabe von ^{59}Fe-($FeCl_3$) bzw. ^{59}Fe-($FeCl_3$) zusammen mit 8-OH-chinolin bei eisenarmen Ratten.

Die Zahlen (Imp/min) sind die Mittelwerte von 5 - 8 Ratten (160 - 190 g Gewicht) ± der Standardabweichung σ; Fe-Dosis: 0,36 µM ^{59}Fe-($FeCl_3$) in 2 ml Flüssigkeit (vergl. Methode Seite) entsprechend 270 000 Imp/min und ml; 8-OH-chinolin/Fe = 20/1; * = $p < 0{,}01$ und (*) = $p < 0{,}05$ gegen Kontrollen.

Zeit Std.	Zusatz	Ery. eines ml Blutes	Plasma	Femurknochen	Leber	Nieren	Lunge	Herz	Milz	Magen-Darm-Trakt	Kadaver
5	ø	5100 ± 1970	5100 ± 1160	7650 ± 1700	13700 ± 2950	1470 ± 565	2370 ± 690	750 ± 86	6100 ±1500	110000 ±27600	112000 ± 24000
	8-OH-chinolin	5100 ± 2620	2380 ± 1000	6800 ± 3280	33000* ±19800	1940(*) ± 297	3640 ± 800	980(*) ±233	7950 ±4000	99000 ±15000	103000 ± 29500
24	ø	12250 ± 6400	15 ± 11	1410 ± 540	16500 ± 6500	1260 ± 388	3840 ±1910	1100 ±600	5050 ±3950	27600 ± 7900	39500 ± 10200
	8-OH-chinolin	14100 ± 9800	89 ± 70	1520 ± 640	45800* ±37000	1520 ± 450	3800 ±2600	1070 ±540	4050 ±1880	27200 ±18900	38200 ± 10200
120	ø	19500 ± 1750	160 ± 65	565 ± 291	11900 ± 3900	1890 ± 610	3300 ± 915	1190 ±230	4000 ±1900	4200 ± 1050	39400 ± 5800
	8-OH-chinolin	19700 ± 3420	140 ± 45	465 ± 122	11900 ± 5200	1580 ± 530	3840 ± 940	1240 ±388	5550 ±3030	5200 ± 810	35200 ± 8400

VII. LITERATURVERZEICHNIS

1. KOBERT (1894); zit. nach TURK, H.:
   Ein Beitrag zur Geschichte der Eisentherapie bei Anämien.
   Inaug.-Diss. Marburg (1940).

2. FORTH, W.:
   Die Rolle des Dünndarmepithels bei der Regulation der Eisenresorption; ein experimenteller Beitrag zu den Grundlagen der Eisentherapie.
   Materia Medica Nordmark Nr. 62, September 1968.

3. FORTH, W., W. RUMMEL, E. SEIFEN und Sp. I. RICHMOND:
   Der Einfluß verschiedener Liganden auf Resorption, Verteilung und Ausscheidung von Eisen nach oraler Verabfolgung.
   N.-Schmiedebergs Arch. Pharmak. exp. Path. 252, 242 (1965).

4. FORTH, W., W. RUMMEL und K. PFLEGER:
   Der Einfluß von Liganden auf die Retention von Eisen nach oraler Verabfolgung an normalen und anämischen Ratten.
   N.-Schmiedebergs Arch. Pharmak. exp. Path. 261, 225 (1968).

5. FORTH, W. und W. RUMMEL:
   Eisen-Resorption an isolierten Dünndarmpräparaten von normalen und anämischen Ratten.
   N.-Schmiedebergs Arch. Pharmak. exp. Path. 252, 205 (1965).

6. FORTH, W., W. RUMMEL und E. SEIFEN:
Der Einfluß verschiedener Liganden auf Eisen-Durchtritt und -Bindung an isolierten Darmpräparaten normaler und anämischer Ratten.
N.-Schmiedebergs Arch. Pharmak. exp. Path. 252, 224 (1965).

7. FORTH, W. und W. RUMMEL:
Beziehungen zwischen Eisen-Konzentration und -Resorption am isolierten Dünndarm normaler und anämischer Ratten.
Med. Pharmacol. exp. 14, 289 (1966).

8. FORTH, W., W. RUMMEL und P. J. BECKER:
Die vergleichende Prüfung von Bindung und Durchtritt von Eisen, Kobalt und Kupfer durch isolierte Jejunumsegmente normaler und anämischer Ratten.
Med. Pharmacol. exp. 15, 179 (1966).

9. FORTH, W., G. LEOPOLD und W. RUMMEL:
Eisendurchtritt von der Mucosa- zur Serosaseite und umgekehrt an isolierten eisenarmen und normalen Segmenten von Jejunum und Ileum.
N.-Schmiedebergs Arch. Pharmak. exp. Path. 261, 434 (1968).

10. FORTH, W. und W. RUMMEL:
Zur Frage der Regulation und Eisenresorption durch Gastroferrin, ein eisenbindendes Protein des Magensaftes.
Klin. Wschr. 46, 1003 (1968).

11. GOLDBERG, L. and L. E. MARTIN:
The absorption, distribution and utilization of iron in fat-soluble form.
Life Sciences 3, 1465 (1964)

12. PRINGLE, A., A. GOLDBERG, E. MacDONALD and S. JOHNSTON:
^{59}Fe iron sorbitol citric acid complex in iron deficiency anemia.
Lancet, S. 749 (1962).

13. BECKER, P. J.:
Die Prüfung der Eisenresorption am Rattendarm in vivo und in vitro unter dem Einfluß von 8-Hydroxychinolin und 7-Jod-8-Hydroxychinolin-5-sulfonsäure.
Inaug.-Diss. Homburg/Saar (1967).

14. RUMMEL, W., W. FORTH und K. PFLEGER:
Der Einfluß verschiedener Liganden auf die Eisenresorption.
in: Radioisotope in der Gastroenterologie, S. 129 (VANNOTTI und HOFFMANN, Eds.) F. K. Schattauer (1967).

15. FORTH, W., und H. ANDRES:
Methode zur Erzeugung eines Eisenmangels bei Ratten.
Arzneim.-Forschg. 19, 363 (1969).

16. FORTH, W., K. PFLEGER, G. ROHNS und W. RUMMEL:
Der Einfluß von Komplexbildnern auf die Verteilung intravenös verabreichten Eisens im Organismus.
Tagungsbericht der gem. Tagung der Deutschen Ges. f. Biophysik, der Österr. Ges. f. reine und angew. Biophysik und der Schweizer.Ges. f. Strahlenbiologie, S. 319 (1964).

17. CARTLAND, G. F. and C. KOCH:
A micro modification of the Keith-Rowntree plasma-dye method for the estimation of blood volume in the rat.
Amer. J. Physiol. 85, 540 (1928).

18. CRÜSEMANN, D.:
Die Eisenaufnahme und intrazelluläre Verteilung an Kaninchenreticulozyten unter dem Einfluß verschiedener Komplexbildner.
Inaug.-Diss. Homburg/Saar (1968).

19. FORTH, W., W. RUMMEL, D. CRÜSEMANN und K. PFLEGER:
Die Bedeutung der Bindung in der Zellmembran für die Fe-Aufnahme der Reticulozyten.
N.-Schmiedebergs Arch. Pharmak. exp. Path. 257, 275 (1967).

20. FORTH, W., W. RUMMEL, D. CRÜSEMANN und J. SIMON:
Die Bindung von Eisen und verwandten Schwermetallen in der Membran und ihre Aufnahme in Reticulozyten.
in: Stoffwechsel und Membranpermeabilität von Erythrozyten und Thrombozyten. (DEUTSCH, GERLACH, MOSER, Eds.) Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1969).

21. MAZUR, A., I. LITT and E. SHORR:
Oxydation and reduction of Ferritin Sulfhydryl-Disulfide groups by liver.
J. biol. Chem. 187, 497 (1950).

22. MAZUR, A., S. BAEZ and E. SHORR:
The mechanism of iron release from Ferritin as related to its biological properties.
J. biol. Chem. 213, 147 (1955).

23. SILLEN, L. G. and A. E. MARTELL:
Stability Constants.
The chemical Society, Burlington House W1,
London (1964).

24. TURK, H.:
Ein Beitrag zur Geschichte der Eisentherapie bei Anämien.
Inaug.-Diss. Marburg (1940).

25. MENNICKE, W.:
Spektralphotometrische und biologische Untersuchungen an Eisen (III)- und Kupfer (II)-Aminohydroxamato-Komplexen.
Inaug.-Diss. Saarbrücken (1969).

26. LAWSON, H. C.:
The volume of blood - a critical examination of methods for its measurements.
in: Handbook of Physiology; Circulation, Vol. 1, S. 23. (HAMILTON and DOW, Eds.) Amer. Physiol. Soc. Washington, D.C. (1962).

Lebenslauf

Am 20. April 1941 wurde ich als dritter Sohn des Dr. med. Paul Texter und seiner Ehefrau Mathilde geb. Schemer in Sulzbach/Saar geboren.

Von 1947 bis 1951 besuchte ich die Volksschule Sulzbach und anschließend das Realgymnasium in Sulzbach, wo ich Ostern 1961 die Reifeprüfung bestand.

Nach 2 Semestern Medizinstudium an der Universität des Saarlandes und einem Semester in Mainz, legte ich 1962 das Vorphysikum in Mainz ab. Während der übrigen vorklinischen Zeit studierte ich in Erlangen, wo ich 1965 die ärztliche Vorprüfung bestand.

Die klinischen Semester verbrachte ich in Erlangen und dann in Homburg/Saar, wo ich im November 1968 mein Studium mit dem medizinischen Staatsexamen abschloß.

1969 war ich 4 Monate als Medizinalassistent auf der geburtshilflich gynäkologischen Abteilung des St. Josefs-Krankenhaus Dudweiler/Saar (Leitender Arzt Dr. med. Braunberger) und 8 Monate lang auf der Inneren Abteilung (Chefarzt Dr. med. Müller) des St. Josefs-Krankenhaus Dudweiler/Saar tätig. Seit Januar 1970 bin ich als Medizinalassistent in der chirurgischen Abteilung des Knappschafts-Krankenhaus Quierschied/Saar (Chefarzt Dr. med. Rissland) beschäftigt.